As "MEMÓRIAS DO INSTITUTO BUTANTAN" têm por finalidade a apresentação de trabalhos originais que contribuam para o progresso nos campos das Ciências Biológicas, Médicas e Químicas, elaborados por especialistas nacionais e estrangeiros.

São publicadas sob a orientação da Comissão Editorial, sendo que os conceitos emitidos são de inteira responsabilidade dos autores.

The "MEMÓRIAS DO INSTITUTO BUTANTAN" are the vehicle of communication for original papers written by national and foreign specialists who contribute to the progress of Biological, Medical and Chemical Sciences.

They are published under the direction of the Editorial Board which assumes no responsibility for statements and opinions advanced by contributors.

Indexado/Indexed: Biosis Data Base, Chemical Abstract, Current Contents, Index Medicus.

Periodicidade: irregular
Permuta/Exchange: são feitas entre entidades governamentais, com publicações congêneres, mediante consulta prévia. Exchanges with similar publications can be settled with academic and governmental institutions through prior mutual agreement.
Endereço/Address. Instituto Butantan — Biblioteca. Av. Vital Brasil, 1.500
05504 — São Paulo, SP — Brasil
Telefone/Telephone: (011) 813-7222 — R. 129 — Telex: (011) 83325 BUTA-BR
Telefax: (011) 815-1505

Mem. Inst. Butantan
51(2), 1989.

SUMÁRIO/CONTENTS

Mem. Inst. Butantan
51 (2): 43-56, 1989.

THE NEPHILINAE SPIDERS OF THE NEOTROPICS (ARANEAE: TETRAGNATHIDAE)

Herbert W. LEVI*
Vera Regina D. Von EICKSTEDT**

ABSTRACT. The spider genera *Nephila* and *Nephilengys* belong to the family Tetragnathidae. There are three species of nephilines in the Neotropical region: *Nephila clavipes* from south-eastern United States to northern Argentina, *Nephila sexpunctata* in Brazil, Paraguay and northern Argentina, and the introduced *Nephilengys cruentata* which is commonly found in Brazil associated with man, making its web on buildings.
KEY-WORDS. Nephilinae spider systematics; neotropical spiders; Araneae: Tetragnathidae.

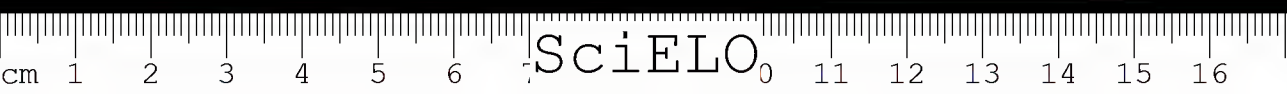
INTRODUCTION

In 1912 F. Dahl revised the large *Nephila* spiders worldwide, without a single illustration. He reported only two species for America and stated that he could not find any specimens that matched Giebel's description of a species from Mendoza, Argentina. Giebel's specimen has now been reexamined and found to be the same as *Nephila* sp. which has in recent years been found in southern Brazil and Paraguay and raised in the laboratory of the Seção Artrópodos Peçonhentos of the Instituto Butantan.

The catalogs of Roewer and Bonnet and many recent publications place *Nephila* in the Araneidae. But now that specimens have been reexamined, *Nephila* is found to have derived characters shared with members of the family Tetragnathidae.

MATERIAL AND METHODS

Specimens have come from numerous institutions and we would like to thank their curators for making the collections available. They are:

* Museum of Comparative Zoology, Harvard University, Cambridge, USA
** Instituto Butantan, Seção Artrópodos Peçonhentos, São Paulo, Brasil.
Recebido para publicação em 19/9/1988 e aceito em 18/4/1989.

AMNH, American Museum of Natural History, New York, NY, U.S.A., N.I. Platnick.
BMNH, British Museum, Natural History, London, England, P. Hillyard.
FMNH, Field Museum of Natural History, Chicago, IL, U.S.A.
IB, Instituto Butantan, São Paulo, Brazil.
MACN, Museo Argentino de Ciencias Naturales, Buenos Aires, Argentina, E. Maury.
MCN, Museu de Ciencias Naturais, Fundação Zoobotânica, Porto Alegre, Brazil, A.A. Lise.
MCZ, Museum of Comparative Zoology, Cambridge, MA, U.S.A.
MEG, Maria Elena Galiano, Buenos Aires, Argentina.
MLU, W.B. Zoologie, Martin-Luther-Universitat, Halle (Saale), D. Heidecke.
MNRJ, Museu Nacional, Rio de Janeiro, Brazil, A. Timotheo da Costa.
MRAC, Musée Royal de l'Afrique Centrale, Tervuren, Belgium, R. Jocqué,
MZSP, Museu de Zoologia, Universidade de São Paulo, São Paulo, Brazil, J.L.M. Leme.
ZMB, Zoologisches Museum, Humboldt Universitat, Berlin, DDR Germany, M. Moritz.

We thank Linden Higgins, who found a specimen of *N. sexpunctata* in the Field Museum. Peter Sacher helped locate the specimen of Giebel in the Halle (Saale) collection. M.T. Nogueira and M. Costa assisted in raising *N. sexpunctata* in the laboratory. NSF grants BSR 83-12772 and BSR 85-13842 to H.W.L. made trips to Brazil possible.

Nephilinae Simon

Nephiliae Simon, 1894: 749

Diagnosis. Unlike other tetragnathids, nephilines have the labium longer than wide, transverse grooves on the booklung covers, and the metatarsi and tarsi together longer than the patellae and tibiae. The carapace is truncate in front, the eyes region narrower than the head, as in *Leucauge*, and the median ocular quadrangle is square. In American species there is great diversity in size between males and females. While these characters hold for the three American species, unfortunately they do not for other nephilines (Levi and Coddington, in prep.)

Relationships. *Nephila* is usually placed in the Araneidae. This placement is incorrect as *Nephila* does not have any of the synapomorph characters of the Araneidae. On the other hand, *Nephila* species have certain apomorph tetragnathid characters:
1) the male palpus has a spherical tegulum with apical sclerites;
2) the male palpus lacks the median apophysis and radix;
3) the embolus of the male palpus is wrapped by the conductor;
4) a prominent tarsal organ is present on the cymbium (Levi and Coddington in prep.);
5) the paracymbium of the male palpus is often a free sclerite.

Key to Neotropical Nephilinae

1. Female 2
— Male 4
2(1). Underside of abdomen with 4 white patches on black (Fig.24); carapa-

ce with some short macrosetae (Fig. 25); epigynum with transverse groove between two hemispherical bulges (Fig. 21); Brazil .... *Nephilengys cruentata*

— Underside of abdomen marbled (Fig. 15); carapace with white setae (Fig. 14); epigynum otherwise 3

3(2). Abdomen narrow with overhang above spinnerets; two horns present on female carapace (in range of the two sympatric species); epigynum with a wide dark groove (Fig. 4); southeastern United States to northern Argentina .... *Nephila clavipes*

— Abdomen oval, not overhanging spinnerets (Figs. 14,15); female carapace without horns; epigynum is an oval depressed plate with a groove on each side into an anterior opening (Figs. 10,11); Brazil and Paraguay, northern Argentina .... *Nephila sexpunctata*

4(1) Palpus with conductor and embolus short, forming a distal coil (Figs. 16-18), Brazil .... *Nephilengys cruentata*

— Palpus with conductor and embolus forming a filiform projection (Figs. 1,2,5,6).. 5

5(4) Abdomen without dorsal scutum; length of projecting embolus and conductor about 1.5 times length of palpal bulb (Figs. 1,2); southeastern United States to northern Argentina .... *Nephila clavipes*

— Abdomen with dorsal scutum (Figs. 8,9); length of projecting embolus and conductor about 2.2 times length of bulb (Figs. 5,6); Brazil and Paraguay, northern Argentina............. *Nephila sexpunctata*

Nephila Leach

Nephila Leach. 1815:133. Type species by monotypy: *Nephila maculata* (Fabricius). The name is feminine in gender.

Diagnosis. The underside of the female abdomen is usually marbled (Fig. 15), never with four white patches. The carapace of the female is covered with setae (Fig. 14), the legs are longer than those of *Nephilengys* species and the conductor and embolus form a straight projection at right angle to the axis of the palpus. (Figs, 1,2,5,6)

Nephila clavipes (Linnaeus)
Figures 1-4

Aranea clavipes Linnaeus, 1767: 1034. Name given to specimens from Jamaica illustrated by P. Browne, 1756: 419, pl. 44, fig. 4.

Nephila clavipes: — Levi, 1980: 17, figs 23-43, female, male, map 2. References to illustrated literature. Robinson and Robinson, 1980.

Note. The illustrations (Fig.4) were made from a female from Paraguay, a male (Figs.1-3) from Argentina.

Distribution: Southeastern United States to northern Argentina.
Southernmost records: PARAGUAY: *Caazapá*: Buena Vista, female (D. Wees, MCZ). ARGENTINA: *Missiones*: numerous records (MEG and MACN). *Jujuy*: Yuto, El Pantanosa, March 1967, male (MEG). *Salta*: Cabacal, female (MACN).

Nephila sexpunctata Giebel
Figures 5-15; Plate 1

Nephila sexpunctata Giebel, 1867:325. Female holotype from Mendoza (Argentina) in MLU examined and labeled. Bonnet, 1958: 3084.

Nephila chacoensis Badcock, 1932: 16, fig. 11, female, male. Female, male syntypes from Makthlawaiya [23°25'S, 58°19'W], Paraguay in BMNH, examined. Bonnet, 1958: 3068. NEW SYNONYMY.

Nephila dubia Badcock, 1932: 17. Two immature syntypes, 13 mm total length, from Nanahua (23°30'S, 59°30'W), Paraguay in BMNH, examined. Roewer, 1942: 933. NEW SYNONYMY.

Note. Roewer's Katalog (1942) lists *N. sexpunctata* erroneously as a synonymy of *N. clavipes vespucea* (Walckenaer). It does not list *chacoensis*. D. Heidecke sent H.W.L. five unlabeled *Nephila* from their collection for examination and one of them matched Giebel's description in all details and measurements. It now has been labeled. The name *sexpunctata* refers to the six dark spots, one pair in the groove between head and thorax, and two more pairs on the sides of the thorax, more visible in living than in preserved specimens.

Description. Female (living). Carapace dark orange to brown, edge of thorax lighter orange, covered by dense, silver down; ocular area dark, hairless. Chelicerae blackish-brown. Labium and endites dark brown with distal edge light orange. Sternum orange with dark brown marks (Fig. 15). Coxae ventrally orange with anterior and posterior sides dark brown. Legs dark orange, two distal articles darker to black; legs III and IV blackish at distal end of femur, patella and tibia; first tibia with a scanty brush of dark hairs, weaker on tibiae II and IV and lacking on tibia III. Abdomen with a marble-like color pattern, dark gray to silvery; dorsum blackish at anterior, with an anterior whitish patch followed by five pairs of white spots in the median line and diagonal marbelized bands (Fig. 14); venter with a rectangular blackish patch behind the epigastric furrow and a many-sided one in front of the spinnerets, conspicuous in immature females but camouflaged in the adults, otherwise mottled dark on light; a transverse whitish stripe posterior to the epigynum; epigastric area dark with a yellow to white bar edging the book-lungs; posterior tip of abdomen darker. Thoracic depression with an upside down U-shaped mark. Posterior median eyes 0.9 diameter of anterior medians, anterior laterals, 0.9 diameter, posterior laterals 0.8. Anterior median eyes 1.5 diameters apart, posterior median eyes 2.5 diameters apart. Height of clypeus equal to 3.5 diameters of anterior median eyes. Chelicerae with three teeth on anterior margin, four on posterior. Abdomen elongate oval (Fig. 14, 15). Total length 32mm. Carapace 12.1 mm long, 7.7 wide. First femur 16.4 mm, patella and tibia 15.7, metatarsus 17.4, tarsus 3.6. Second patella and tibia 13.6 mm, third 7.1, fourth 10.3.

Male. Carapace orange-black, lightest on head, thoracic margin and on median line or all dark. Chelicerae blackish brown. Sternum black with median light longitudinal band. Coxae, legs light orange; legs I and II blackish on distal end of femur, patella and distal half of tibia. Dorsum of abdomen with shiny, dusky orange scutum, with two pairs of indistinct dusky patches, margins darker (Figs. 8, 9); venter with white pigment line on each side, dusky in between, a dark dusky patch near the spinnerets, epigastrum

dark with a yellow triangle on each side, well marked in living males. Secondary eyes 0.7 diameter of anterior medians. Anterior median eyes 0.7 diameter apart, 0.4 from laterals. Posterior median eyes their diameter apart, their diameter from laterals. Sternum convex. Palpal patella with one seta. Endite swollen at base on each side. Legs with a few long macrosetae; abdomen with near parallel sides, rounded in front and behind and with a scutum. Total length 2.8 mm. Carapace 1.4 mm long, 1.1 wide. First femur 1.8 mm, patella and tibia 1.7, metatarsus 1.9, tarsus 1.0. Second patella and tibia 1.5 mm, third 0.8, fourth 1.1.

Variation. Immatures with brighter color pattern, orange-brown to silvery; sternum of immature females with a white longitudinal band, as in the males. The abdomen of males varies in lenght (Figs. 8, 9).

Diagnosis. Females are larger than those of *N. clavipes* and the abdomen is more oval, less cylindrical (Figs. 14, 15). The ventral abdominal mottled markings (Fig. 15) and the deep dark pit on each side of the epigynum (Figs. 10, 11) are diagnostic. Males have dark carapaces while those of *N. clavipes* males are bright yellow, and the embolus and surrounding conductor is more than twice as long as the length of the bulb (Figs. 5, 6) while those of *N. clavipes* are about 1.5 times the length of the palpal bulb.

Natural History. In March, 1986, V.R.E. received a preserved nephilinae from Cuiabá (Mato Grosso) to be identified. It was neither *Nephila clavipes* nor *Nephilengys cruentata*, the two species of this group known in Brazil. The spider was sent then to H.W.L., who concluded that it was conspecific with one he had seen from Paraguay some time before and that it would be necessary to get adult males to ascertain the correct identification of the species. A living female of the same species from Ibitinga (São Paulo) was donated to Butantan in April, 1986 and two days after its arrival an egg sac was found in the web. Two months later, as the spiderlings had not emerged and the mother had died a small hole was made in the egg sac and some spiderlings were removed to be raised. On the three occasions when this was done, the remaining spiderlings inside the cocoon closed the hole afterwards. None of the 40 isolated individuals survived. The remainder spiderlings emerged by themselves after 253 days from the egg sac construction (more than eight months!), and two adult males were obtained. One of them was sent to HWL, who identified the species eventually as *Nephila sexpunctata* Giebel. In August, 1987 M.T. Nogueira (Butantan) went to Ibitinga in search of more specimens; after an exhaustive inspection she only found four egg sacs of the species. Two males, one female and two cocoons were avaiable from a second going (April, 88); several spiderlings were raised in the laboratory, some up to adulthood.

The avaiable Brazilian females were collected in February and April. Males have matured in the laboratory from November to February. The specimen from Cuiabá was found in a web on the walls of a building. In Ibitinga, two different situations were noticed: 1) spiders next to houses with snares constructed under eaves and cocoons tied to roof shingles; 2) specimens with snares built between mango and guava trees, bamboo, eucalyptus or a native Apocynaceae (*Peschiera* sp. = "leiteira"), mostly up to five meters high an some higher; egg sacs fastened to the branches. The egg sac of *N. sexpunctata* is very characteristic: it is hat-shaped with a flat bottom (3,5 cm) and a very convex cover (3,0 cm); the walls, of a whitish closely woven silk, are covered by yellow threads and thicker brown ribbons

of silk by which the egg sac is tied. In nature, the cocoons remain generally hidden by leaves. The *N. sexpunctata* web is a near vertical orb, with a large free zone and an entire hub where the spider rests, head down, on the lowerside. In the laboratory cages, immatures construct an orb (Plate 1) with a barrier web on each side, consisting of oblique silken threads, irregularly placed. The web of an adult female found in the field was 80 cm overall, the orb measuring about 50 cm in diameter; unlike the webs of immatures, the silken threads were yellow and no barrier web was present. The exuviae and remains of preys are stored in a row near and above the hub (10-15 *Musca* sp., *Drosophila* sp. and *Ceratites* sp. were counted in a cage-built web.)

Distribution. Brazil, Paraguay to northern Argentina.

Records. BRAZIL. *Mato Grosso:* Cuiabá, female (IB). *São Paulo:* Ibitinga, 2 females, 10 males, several immatures and egg-sacs (IB). PARAGUAY. *Dpto. Central*: Villeta, Feb-March 1983, 1 female (L. Fogarty, MCZ). ARGENTINA. *Missiones*: (without locality), 1 female (FMNH). *Formosa:* Formosa, March 1981, 1 female (P. Jorgensen, MCZ). *Corrientes*: (without locality) 1 female (MACN).

Nephilengys L. Koch

Nephilengys L. Koch, 1872: 144. Type species designated by Bonnet, 1958: *Nephila schmeltzi* L. Koch (= *N. malabarensis* (Walckenaer), the first species cited by Koch. The name is feminine in gender.

Diagnosis. The underside of the female abdomen has four white patches (Fig. 24). The carapace of the female bears some short macrosetae (Fig. 23); the legs are shorter than those of *Nephila* species and the conductor and embolus of the male palpus are more complex, having a twist at the tip (Fig. 16, 17).

Nephilengys cruentata (Fabricius)
Figures 16-25; Plate 2

Aranea cruentata Fabricius, 1775: 439. Specimens from Rio de Janeiro in the Banks collection, in BMNH, lost (Zimsen, 1964.)

Epeira diadela Walckenaer, 1841: 54. Specimens from Rio de Janeiro, lost.

Epeira brasiliensis Walckenaer, 1841: 101. Specimens from Brazil, lost.

Epeira azzara Walckenaer, 1841: 102. Specimens from Brazil, lost.

Nephilengys genualis Gerstacker, 1873:502. Female holotype from Mombas, (Mombassa, Kenya), in ZMB, examined by M. Moritz and compared to our illustrations.

Nephila instigans Butler, 1876:442. Female holotype from Rodriguez, Mascarene Islands, Indian Ocean, in BMNH, not examined.

Nephilengys borbonica var. *mossambicensis* Karsch, 1878:319. Female from Mozambique in ZMB, examined by M. Moritz and compared to our illustrations.

Nephila brasiliensis: Bertkau, 1880:83, pl. 2, fig. 29, female.

Nephilengys cruentata: Lenz, 1891:20, pl. 2, fig. 19 male. Dahl, 1912:47, 48, 77, 79. Lessert, 1936:244, fig. 39, male. Roewer, 1942:933.

Benoit, 1963:368. Robinson and Robinson, 1973, 1980. Schmidt and Jocqué, 1986: 206, figs. 10, 11, female, male.

Nephila cruentata chiloangensis Strand, 1920:109. Female from Chiloango (Angola), not in MRAC, lost.

Nephila cruentata: Bonnet, 1958: 3071.

Note: Dahl's (1912) revision synonymized the names of various species described previously with those of *N.cruentata*. However Schmidt and Jocqué (1986) convincingly showed that Benoit (1963) was right and *Nephilengys borbonica livida* (Vinson, 1863) from the Comoro Islands is in fact a distinct species.

Common name: in Brazil, mostly in Rio de Janeiro, this species is known as Maria Gorda (Fat Maria), Maria Preta (Black Maria) and Maria Bola (Ball Maria).

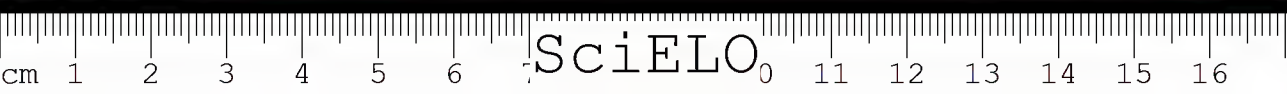
Description. Female. Carapace dark red-brown. Chelicerae, labium, endites dark brown. Sternum orange, margin dark. Coxae dark brown. Legs orange with brown rings. Dorsum of abdomen mottled black on gray, darkest in midline (Fig. 23); sides with white bands from anterior dorsal to posterior ventral, dark between; venter black with two pairs of white spots, another pair on sides (Fig. 24). Carapace with thoracic depression a transverse groove. Secondary eyes 0.8 diameter of anterior medians. Anterior median eyes 1.5 diameters apart, 3.5 laterals. Posterior median eyes four times their diameter apart, five from laterals. Lateral eyes separated by 1.5 their diameter. Abdomen oval. Total length 23mm. Carapace 9.5mm long, 7.5 wide. First femur 11.5mm, patella and tibia 11.8, metatarsus 12.7, tarsus 2.8. Second patella and tibia 10.7mm, third 6.4, fourth 9.4.

Male. Carapace light orange. Chelicerae, labium, endites, orange. Sternum orange. Legs light orange. Abdomen grayish orange with silver spots under the integument, spots densest anterior on dorsum. Carapace without thoracic depression. Secondary eyes 0.5 diameter of anterior medians. Anterior median eyes 0.8 their diameter apart 0.8 from laterals. Posterior median eyes slightly less than two of their diameter apart, two from laterals. Palpal patellae with one seta, endites without tooth. First coxae without hook. Second tibiae as thick as first. Abdomen oval, pointed behind (Fig. 20). Total length 4.1mm. Carapace 2.2mm long, 1.6 wide. First femur 2.6mm, patella and tibia 2.9, metatarsus 3.3, tarsus 1.2. Second patella and tibia 2.4mm, third 1.3, fourth 1.9.

Living specimens have crimson sternum, ventral patches of light yellow.

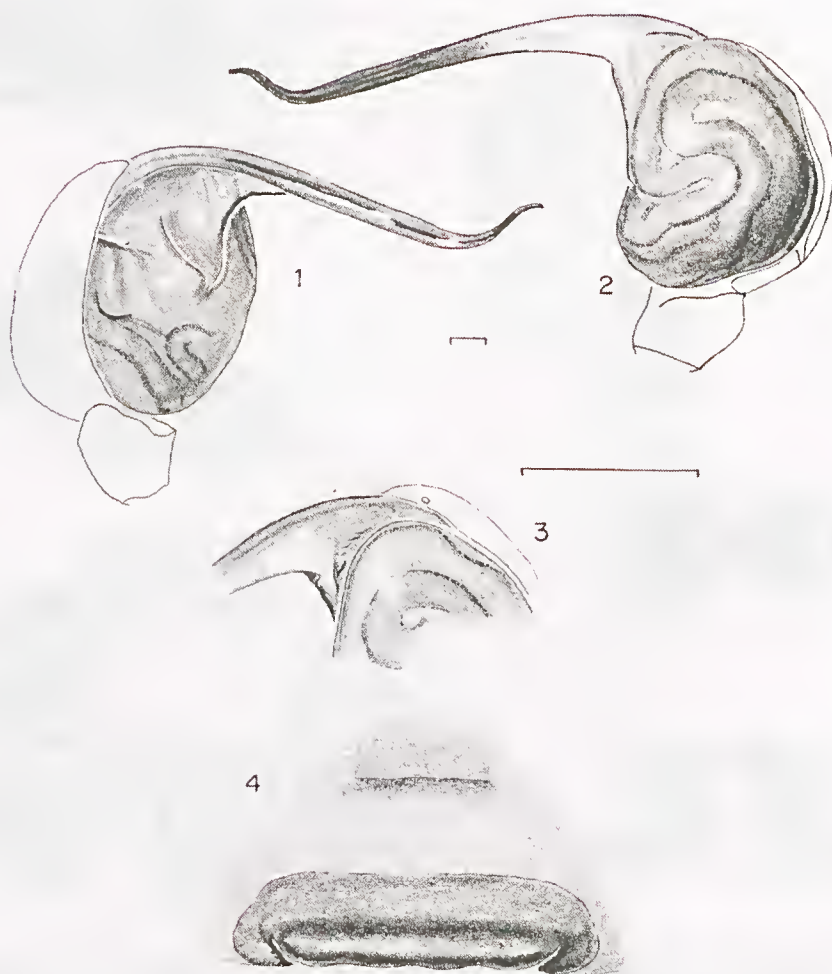
Variation. Total length of American females 16 to 30mm, of males 3.5 to 4.7. Specimens from Madagascar have the sternum black, those from the Mascarene islands have a transverse light band on the sternum (Dahl, 1912). Color photographs of an East African specimen showed the color of the sternum to be yellow. American females vary in the color of the dorsum of the abdomen: black in some individuals, silver in others, often speckled black on white. Specimens collected in dark places (under bridges) and in colder regions are darker in color, while the ones from sunny and open places have a silver-gray dorsum. Early instars are much lighter than penultimate and adult females. In females, the length of the transverse groove of the epigynum varies; in some individuals it is as long as wide, in other it is much longer than wide.

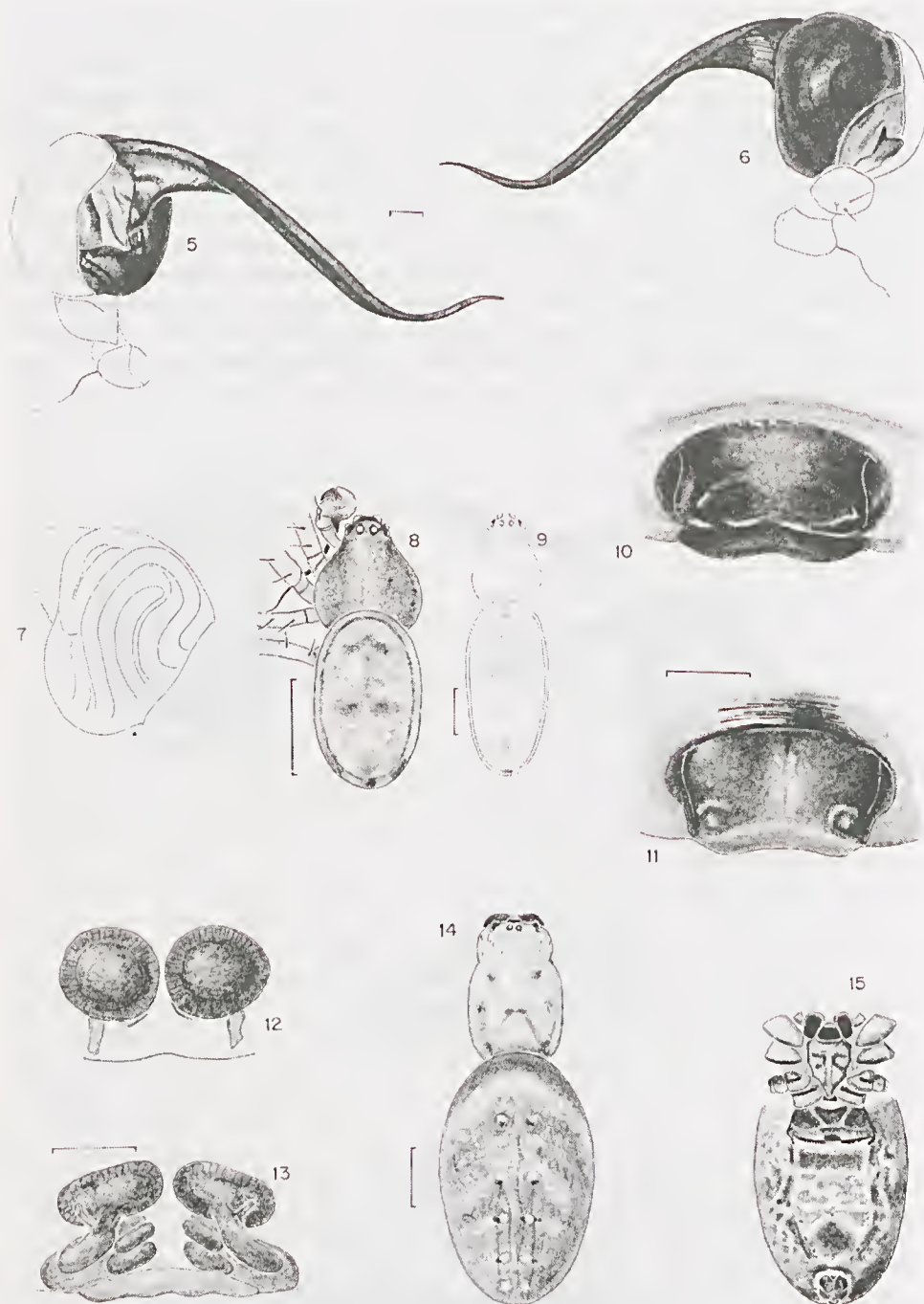
Diagnosis. This species differs from the related *N.malabarensis* (Walc-

kenaer, 1841) by the shape of the genitalia. The epigynum of *N.cruentata* has a transverse groove with a spherical swelling at each end and a posterior keel (Fig. 21). The epigynum of *N.malabarensis* is variable, with two touching transverse swellings in middle, or a median anterior septum fused to a posterior swelling. The palpus of the male *N.cruentata* has a short coiled embolus enclosed in the conductor (Figs. 16-24). In *N.malabarensis*, the conductor and embolus project, shorter than in *Nephila* species but longer than in *N.cruentata*. Differences from the Indian Ocean species *N.borbonica livida* were illustrated recently by Schmidt and Jocqué (1986).

Natural History. Most information on behavior and ecology comes from Robinson and Robinson (1973, 1980) and from Ades, Japyassú and Neiman (1986 and personal communication). The life cycle of *N.cruentata* of São Paulo has been studied by Bauab-Vianna (1970). Both species of *Nephilengys* but especially *N.cruentata* are commensals with humans. The web of spiderlings is a perfect, almost symmetrical orb, with the spider at the center. In later stages of development, a gradual change in web structure takes place, the spider constructs a retreat in the region of the hub. This retreat, initially represented by a thin and vault-like tangle of dried silk, is progressively reinforced and displaced to the upper edge of the web. Finally, the spider builds an incomplete orb with a long tubular retreat placed above the web (Plate 2). This retreat is not renewed periodically as are other parts of the web an can be occupied, opportunistically, by other females of the species (Ades *et al*, 1986). The web is most frequently found on buildings, 2 to 4m high, especially under eaves and porch roofs. The retreat is usually placed in a dark and protected corner. Robinsons observed that the natural habitat is trunks of medium to large trees, the retreat against the bark, the web aerial beneath a large side branch. The spider rests head down in the retreat in several positions, either with flexed legs or with legs extended in a characteristic, alert position. Egg sacs, which consist of a conglomerate of eggs surrounded by a fluffy layer of silk, are normally found near the retreat. In both species, as in the related genus *Herennia*, some males may be eunuchs; after mating they amputate the cymbium and bulb from their palpal tibia and defend the female against other suitors. Courting males fight in the web; eunuchs stay near the outer surface of the retreat. Robinsons observations were made in Africa and India, but eunuchs have also been found in collections from Brazil. Males with the whole palpus broken off have also been observed by Janet Edmunds in West Africa (personal communication, 1980).

Distribution. Africa, Indian Ocean Islands and Brazil. The MCZ has specimens from Ghana, Kenya, Mozambique. The most northeastern Brazilian record is Valença (BA); western-most locality is Barra dos Bugres (MT).

American Records. BRAZIL. *Bahia:* Alcobaça, Nova Viçosa, Valença (MNRJ). *Goiás:* Goiás Velho, Morrinhos, Rio Verde (MNRJ). *Mato Grosso:* Barra dos Bugres (MCN). *Mato Grosso do Sul:* Costa Rica (IB). *Minas Gerais:* Governador Valadares, Ibituruna mountain base (AMNH); Dom Silverio, Mendanha (MCN); Ouro Preto, Prados (MZSP); Sereno, Rio Acima, S. João Del Rei, Paraisópolis, Extrema (IB); Além Paraíba, Manhuaçu, Tombos, Juiz de Fora, Viçosa, Ubá, Formiga, Lavras, Nepomuceno, Conselheiro Lafaiete, São Lourenço, Pedro Leopoldo, Caeté (MNRJ). *Espírito Santo:* Castelo, Colatina, Linhares, (MNRJ). *Rio de Janeiro:* Petrópolis (AMNH); Rio de Janeiro (AMNH, MCZ, MCN, MNRJ); Mendes (MZSP);

Angra dos Reis, São Fidélis (MZSP, MNRJ); Barra Mansa, Morro Grande, Marquês de Valença (IB); Parati (IB, MNRJ); Campos, Bom Jesus do Itabopoana, São Eduardo, Cambuci, Itaocara, Carmo, Vassouras, Resende, Maricá, Saquarema, Conceição, Dores de Macabu, Friburgo, Itaguaí, Rio das Flores (MNRJ). *São Paulo:* São Paulo, Jundiaí (MCZ, IB); Ilha Bela, São Sebastião (MCN, IB); Boracéia, Cubatão, Piquete, Juquiá (MZSP); Ubatuba, Guarulhos (MZSP, IB); Aparecida do Norte, Paraíba do Sul, Pindamonhangaba, Roseiras, Taubaté, Itatiba, S. José dos Campos, Atibaia, Vinhedo, Guararema, Indaiatuba, Jacareí, Peruíbe, Bertioga, Mongaguá, Americana, Biritiba Mirim, Bragança Paulista, Caraguatatuba, Itu, Bom Jesus dos Perdões, Guaratinguetá, Jambeiro, Campos do Jordão, Santa Isabel, Santa Branca (IB); Piracicaba, São Carlos, Ribeirão Preto, Barretos (MNRJ). *Paraná:* Palmeira (IB), Pato Branco, Ponta Grossa, Maringá, Londrina, Castro (MNRJ). *Rio Grande do Sul:* Rio Grande (IB).

Figures 1-4, *Nephila clavipes* (Linnaeus) 1—3. Male, left palpus. 1. Mesal. 2. Lateral. 3. Lateral, showing round tarsal organ on cymbium. 4. Female epigynum.
Scale lines. Male 0.1 mm, female 0.5 mm

LEVI, H. W. & EICKSTEDT, V. R. D. Von. The Nephilinae spiders of the neotropics (Araneae: Tetragnathidae). **Mem. Inst. Butantan, 51** (2):43-56, 1989.

FIGURES 5-15. *Nephila sexpunctata* Giebel. 5-9. Male. 5—7. Left palpus. 5. Mesal. 6. Lateral. 7. Lateral, syntype specimen showing ducts. 8, 9. Dorsal. 8. Brazil. 9. Syntype. 10-15. Female. 10-13. Epigynum. 10. Villeta, Paraguay. 11. Syntype. 12. Dorsal view, cleared. 13. Posterior view, cleared. 14. Dorsal. 15. Posterior.
Scale lines. Figures 6-7, 0.1 mm. Figures 8, 9, 1.0 mm. Figures 10-13, 0.5 mm. Figures 14, 15, 5.0 mm.

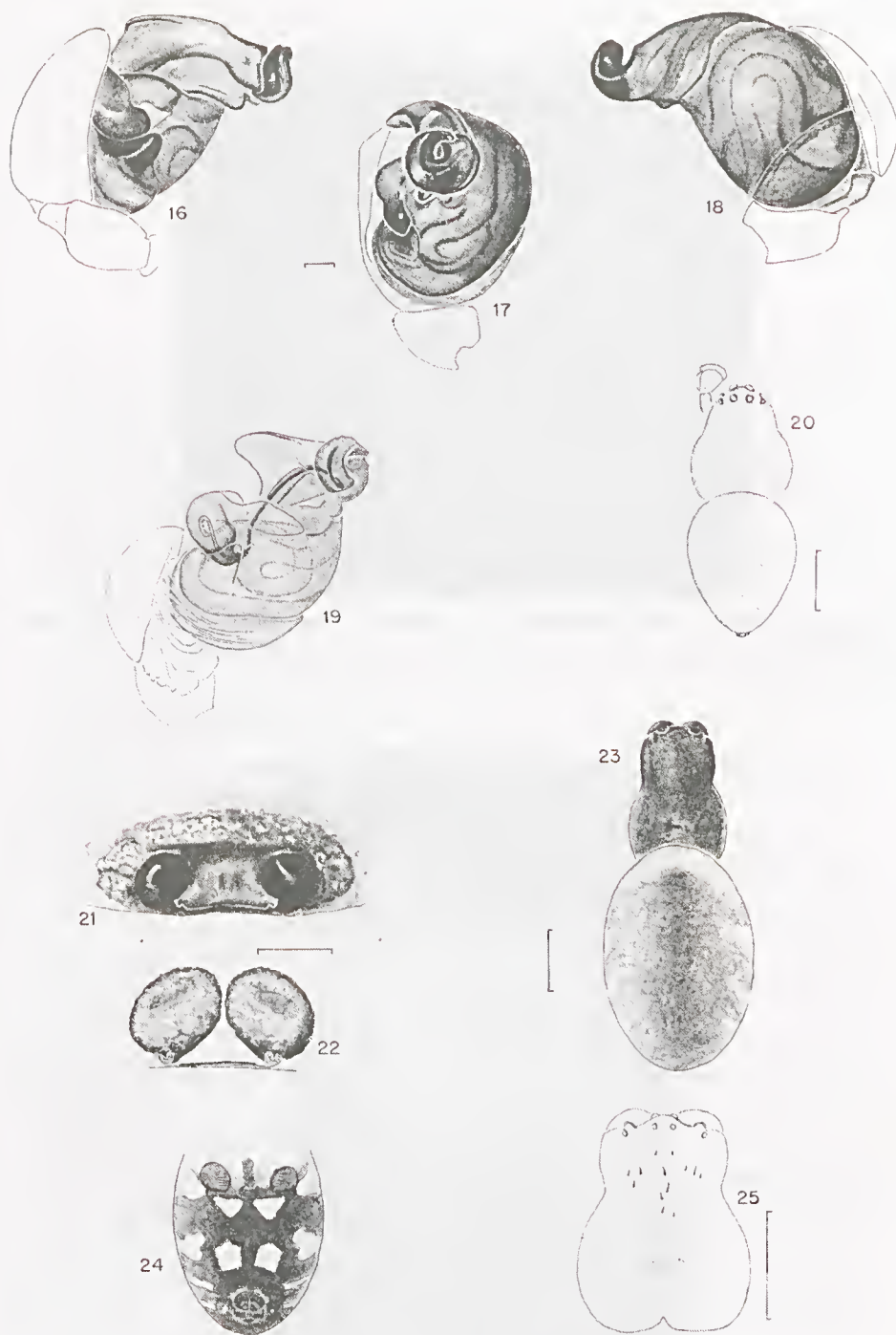
LEVI, H. W. & EICKSTEDT, V. R. D. Von. The Nephilinae spiders of the neotropics (Araneae: Tetragnathidae). **Mem. Inst. Butantan, 51** (2):43-56, 1989.

Figures 16-25. Nephilengys cruentata (Fabricius). 16-20. Male. 16-19. Left palpus. 16. Mesal 17. Ventral. 18. Lateral. 19. Expanded and cleared, showing duct. 20. Dorsal. 21-25. Female. 21. Epigynum. 22. Epigynum, dorsal. 23. Dorsal. 24. Abdomen, ventral, 25. Carapace. *Scale lines.* Figures 16-19, 0.1 mm. Figure 20, 1.0 mm. Figures 21, 22, 0.5 mm. Figures 23-25, 5.0 mm.

Plate 1. *Nephila sexpunctata* Giebel. Orb of a juvenile in the laboratory; barrier webs removed (photo S. Caramaschi).

Plate 2. *Nephilengys cruentata* (Fabricius). Web from Jardim Botânico, Rio de Janeiro, horizontal diameter 40-50 cm, retreat on wall near hub.

LEVI, H. W. & EICKSTEDT, V. R. D. Von. The Nephilinae spiders of the neotropics (Araneae: Tetragnathidae). **Mem. Inst. Butantan, 51** (2):43-56, 1989.

RESUMO: Os gêneros de aranha *Nephila* e *Nephilengys* devem ser incluídos na família Tetragnathidae. Ocorrem três espécies de Nephilinae na região neotropical: *Nephila clavipes*, do sudeste dos Estados Unidos ao norte da Argentina; *Nephila sexpunctata* no Brasil, Paraguai e norte da Argentina e *Nephilengys cruentata*, espécie introduzida, comumente encontrada no Brasil associada ao homem.
UNITERMOS: Sistemática de aranhas Nephilinae; aranhas neotropicais; Araneae: Tetragnathidae.

REFERENCES

1. ADES, C.; JAPYASSÚ, H.F.; NEIMAN, Z. Altura e micro local como fatores de escolha de habitat na aranha *Nephilengys cruentata*: um estudo ontogenético. *Ciênc. e Cult.*, *38*: 1017 (Abstract), 1986.
2. BADCOCK, H.D. Arachnida from the Paraguaian Chaco. *J. Linn. Soc. Lond., Zool.*, *38*: 1-48, 1932.
3. BAUAB-VIANNA, M.J. Ciclo biológico e desenvolvimento pós-embrionário de *Nephila cruentata* (Fabricius, 1775) (Araneae, Araneidae). São Paulo, 1970. 32 p. (Tese mestrado — Universidade de São Paulo).
4. BENOIT, P.L.G. Araneidae — Nephilinae africains du Zoologisches Staatsinstitut und Zoologisches Museum Hamburg. *Ent. Mitt. zool. Stinst. zool. Mus. Hamb.*, *2*(41): 367-372, 1963.
5. BERTKAU, P. Verzeichnis der von Prof. Ed. van Beneden auf seiner im Auftrage der belgischen Regierung unternommen wissenschaftlichen Reise nach Brasilien und La Plata im Jahren 1872-73 gesammelten Arachniden. *Mém. cour. Acad. Belg.*, Brussels, *43*:1-120, 2pl, 1880.
6. BONNET, P. *Bibliographia Araneorum*. Toulouse, Douladoure Impr., 1958. v. 2(4): 3027-4230.
7. BROWNE, P. *The civil and natural history of Jamaica*. London, 1756. 490 p. 48 pl.
8. BUTLER, A.G. Preliminary notice of new species of Arachnida and Myriapoda from Rodriguez. *Ann. Mag. Nat. Hist.*, *17*(4): 439-446, 1876.
9. DAHL, F. Seidenspinne und Spinnenseide. *Mitt. Zool. Mus. Berlin*, *6*:1-90, 1912.
10. FABRICIUS, J.C. *Systema Entomologiae*. Flensburg and Lipsiae (Leipzig), 1775. 832p.
11. GERSTACKER, A. Arachnoidea. *In*: Von der DECKEN, C. *Reisen in Ostafrica*. Leipzig, 1873. p. 463-503, pl. 18 (not seen).
12. GIEBEL, C.G. Neue Spinne, *Nephila sexpunctata*, von Mendoza. *Zeitschr. gesammt. Naturwiss.*, *30*:325-326, 1867.
13. KARSCH, F. Ubersicht der von ihm in Mossambique gesammelten Arachniden. *Monatsber. Akad. Wissensch., Berlin*, 314-338, pl. 1, 2, 1878.
14. KOCH, L. *Die Arachniden Australiens*. Nürnberg, 1871-1881,. 1271 p.
15. LEACH, W.E. *Zoological miscellany*. London, 1815. v. 2 154p.
16. LENZ, H. Spinnen von Madagascar und Nossi-Bé. *Jahrb. hamb. wiss. Anst.*, *9*(1 pt. 3): 1-22, 1891.
17. LESSERT, R. Araignées de l'Afrique orientale portugaise recueillies par M.M. P.Lesne et H.B. Cott. *Rev. Suisse Zool.*, *43*(9): 207-306, 95 figs. 1936.
18. LEVI, H. W. The orb-weaver genus *Mecynogea*, the subfamily Metinae and the genera *Pachygnatha*, *Glenognatha* and *Azilia* of the subfamily Tetragnathinae North of Mexico (Araneae: Araneidae). *Bull. Mus. Comp. Zool.*, *149*: 1-74, 1980.
19. LEVI, H.W. The neotropical orb-weaver genera *Chrysometa* and *Homalometa* (Araneae, Tetragnathidae). *Bull. Mus. Comp. Zool.*, *151*(3): 91-215, 1986.
20. LINNAEUS, C. *Systema naturae*. 12. ed. Stockholm, 1767. v. 1. part 2. p.533-1327
21. ROBINSON, M.H. & ROBINSON, B. Ecology and behavior of the Giant Wood Spider *Nephila maculata* (Fabricius) in New Guinea. *Smithson Contrib. to Zool.*, (149): 1-75, 1973.
22. ROBINSON, M.H. & ROBINSON, B. Comparative studies in the courtship and mating behavior of tropical Araneid spiders. *Pac. Insects Monogr.*, *36*: 1-218, 1980.
23. ROEWER, C.F. *Katalog der Araneae*. Bruxelles, Bremen, 1942. v. 1. 1040p.
24. SAARISTO, M.I. Spiders (Arachnida, Araneae) from the Seychelles Islands, with notes on taxonomy. *Ann. Zool. Fenn.*, *15*: 99-126, 1978.

LEVI, H. W. & EICKSTEDT, V. R. D. Von. The Nephilinae spiders of the neotropics (Araneae: Tetragnathidae). Mem. Inst. Butantan, 51 (2):43-56, 1989.

25. SCHMIDT, G. & JOCQUÉ, R. Die Nephilinae der Comoren (Araneae, Araneidae). *Rev. Zool. Afrique, 100*: 205-212, 1986.
26. SCHULT, J. & SELLENSCHLO, U. Morphologie und funktion der Genitalstrukturen bei *Nephila* (Arachnida, Araneae, Araneidae). *Mitt. hamburger zool. Mus. Inst., 80*: 221-230, 1983.
27. SIMON, E. *Histoire naturelle des araignées*. Paris, 1894, v. 1(3): 489-760.
28. STRAND, E. Arachniden aus Belgisch Kongo. *Arch. Naturgesch., 85*: 98-113, 1920.
29. VINSON, A. *Aranéides des iles de la Réunion, Maurice et Madagascar*. Paris, 1863. 337p. 14 pl.
30. WALCKENAER, C.A. *Histoire naturelle des insectes Aptères*. Paris, 1841. v. 2. 549p.
31. ZIMSEN, E. *The type material of I.C. Fabricius*. Copenhagen, 1964.

Mem. Inst. Butantan
51(2): 57-62, 1989.

ISOLAMENTO E IDENTIFICAÇÃO DE BACTÉRIAS INTESTINAIS DE CAMUNDONGOS N:NIH(S), DESTINADOS A TESTES BIOLÓGICOS DE VACINAS BACTERIANAS.

Sandra Regina ALEXANDRE *
Sandra Fernandes LOPES **
Carlos RIGHETTI NETO ***
Maria Ivette Carboni MALUCELLI **

RESUMO — O presente estudo objetivou caracterizar os microrganismos, aeróbios ou anaeróbios facultativos, potencialmente patogênicos para camundongos N:NIH(S), utilizados como modelo biológico nas provas de toxidez e potência da vacina Pertussis. As amostras de fezes foram tratadas e semeadas em meio de enriquecimento e seletivos, sendo os microrganismos isolados submetidos às provas de identificação bioquímica. Foram isolados: *Escherichia coli* (72%), *Lactobacillus sp.* (67%), enterococos (66%), *Proteus mirabilis* (25%), *Enterobacter cloacae* (10%), *Pseudomonas aeruginosa* (7%) e *Acinetobacter sp.* (4%)
UNITERMOS: *Enterobacteriaceae*, bactérias intestinais, microbiota intestinal de camundongos.

INTRODUÇÃO

Os animais estão usualmente associados com uma grande gama de microrganismos e parasitas, alguns adquiridos por via transplacentária e a maioria do meio ambiente. Alguns destes são responsáveis por doenças infecciosas, outros são necessários para o desenvolvimento normal do hospedeiro, entretanto, o efeito da grande maioria é relativamente desconhecido (Trexler[15]).

Assim a microbiota intestinal de camundongo foi estudada intensivamente por Schaedler & Dubos[12], registrando que os animais até o nascimento apresentam-se livres de germes.

* Seção de Biotério Geral
** Seção de Vacinas Bacterianas
*** Setor de Lav. Est. e Meios de Cultura
Instituto Butantan — C.P. 65 — 01051 — São Paulo — SP
Recebido para publicação em 8/8/1988 e aceito em 2/3/1989.

ALEXANDRE, S.R.; LOPES, S.F.; RIGHETTI NETO, C.; MALUCELLI, M.I.C. Isolamento e identificação de bactérias intestinais de camundongos N:NIH (S), destinados a testes biológicos de vacinas bacterianas. **Mem. Inst. Butantan, 51**(2):57-62, 1989.

Em camundongos a invasão bacteriana do trato intestinal ocorre inicialmente por contaminação materna, através do material fecal e leite. Para que os microrganismos sobrevivam na superfície do intestino delgado devem superar duas pressões de remoção. A primeira delas é o rápido esvaziamento do conteúdo intestinal e a segunda, a contínua modificação das células do epitélio intestinal (Lee[8]).

As diferentes etapas da invasão bacteriana do trato intestinal por *Lactobacillus*, enterococos, bacilos coliformes e bacteróides foram definidos por Lee e cols[7] e Savage[11].

Quanto ao gênero *Pseudomonas*, Flynn[4] estabeleceu o índice permissível de 10 a 20% para colônias convencionais.

Autores como Hagen e cols[5], Itoh e cols[6], registraram diferenças sensíveis na microbiota intestinal de diferentes linhagens de camundongos. Entretanto, não ficou estabelecido se tais diferenças eram devidas a fatores genéticos, uma vez que animais mantidos em um mesmo ambiente podem exibir certas particularidades com relação a biota intestinal; ao manejo inadequado ou à luta entre hospedeiro e biota pelos nutrientes presentes na dieta, determinando distúrbios não específicos e modificando as condições fisiológicas do trato digestivo (Schaedler e cols[13]).

Segundo Manclark[9] e Desbord & Suire[1], o sucesso e reprodutibilidade dos testes de toxicidade e potência, da referida vacina, dependem da suscetibilidade, uniformidade, comportamento imunológico e estado sanitário do camundongo, uma vez que animais pertencentes a uma mesma linhagem não respondem de maneira idêntica aos testes.

Assim sendo, o conhecimento da carga microbiana dos modelos biológicos utilizados no controle de produtos imunobiológicos é de fundamental importância.

Com este escopo, no presente trabalho foi realizado um estudo das bactérias intestinais aeróbias da colônia de camundongos albinos, variedade N:NIH (S), convencional, em diferentes faixas etárias, objetivando definir sanitariamente o modelo biológico utilizado nas provas de toxicidade e potência da vacina Pertussis, produzida no Instituto Butantan, contribuindo assim para a interpretação mais adequada dos testes e melhor controle destes parâmetros.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados camundongos albinos, variedade N:NIH(S) originários do National Institute of Health, Bethesda - Maryland, USA, mantidos como colônia fechada no biotério da Seção de Vacinas Bacterianas do Instituto Butantan, desde junho de 1983.

Os animais foram mantidos em gaiolas convencionais de polipropileno, sendo utilizada maravalha de pinho ou cedro como cama. Tanto as gaiolas como as camas foram autoclavadas a 120°C por uma hora. A higienização das gaiolas consistia em uma troca semanal.

A ração proveniente de um único fornecedor, bem como a água administrada aos animais, foram autoclavadas a 120°C durante 10 a 60 minutos respectivamente. Um suplemento vitamínico foi adicionado à água dos bebedouros, ministrada duas vezes por semana.

Dos 5.000 animais existentes, foram escolhidos ao acaso 112 camundongos, divididos em quatro faixas etárias: grupo A até 30 dias de idade

(fase pré-desmame); grupo B de 31 a 60 dias (fase em que são submetidos a testes); grupo C de 61 a 90 dias (início da vida reprodutiva) e grupo D de 91 a 180 dias (final de vida reprodutiva).

Após eutanásia por fratura cervical, através de laparotomia em cabine de fluxo laminar, foram colhidas amostras do jejuno e do cecum; a mucosa intestinal e conteúdo abdominal foram macroscopicamente examinados.

Aproximadamente 1g de fezes foi diluído em 10 ml de soro fisiológico 0,85%, estéril. Dessa suspensão 0,1 ml foi semeado em 10 ml de água de peptona 1% e mantida em estufa a 37°C, em aerobiose, por 24 horas, para enriquecimento da amostra (Edwards & Ewing[3]).

Para o isolamento bacteriano foram utilizados meios seletivos, tais como: Holt Harris Teague e Mac Conkey, para bacilos Gram-negativos; Agar Corynebacterium, para corinebactérias; Agar Sangue e Agar Manita, para enterococos e Agar Glicosado camada alta, para Lactobacilos. Todos os meios foram mantidos em estufa a 37°C por 24 horas, exceção feita ao Agar Manita e Sangue mantidos a 45°C por 24 horas.

Tanto o meio de enriquecimento como os seletivos foram produzidos no Setor de Meios de Cultura do Instituto Butantan seguindo as formulações originais (Difco[2]).

Após a obtenção de colônias isoladas, procedeu-se à identificação bacterioscópica através do método de Gram.

Para a identificação das bactérias Gram-negativas, foram realizadas provas bioquímicas, utilizando-se o sistema Bac-Tray (Difco) de identificação.

Para as bactérias Gram-positivas foram utilizados Agar glicosado, Agar Sangue e Agar Manita que diferenciam os enterococos dos demais Streptococos e Lactobacillus quando cultivados a 45°C.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os animais analisados não apresentaram sintomas de diarréia. Nas análises macroscópicas não se evidenciaram alterações na mucosa intestinal ou nas vísceras abdominais.

A freqüência de positividade dos microrganismos aeróbios isolados e identificados das fezes dos camundongos referem-se nas Tabelas 1 e 2.

O gênero *Corynebacterium* foi pesquisado em todas as amostras coletadas, não sendo detectada sua presença.

TABELA 1

Valores da freqüência de bactérias detectadas em fezes de 112 camundongos correspondentes a todas as faixas etárias.

Microrganismos	Número de Animais	Freqüência encontrada (%)
Escherichia coli	112	72
Lactobacillus sp.	112	67
enterococos	112	66
Proteus mirabilis	112	25
Enterobacter cloacae	112	10
Pseudomonas aeruginosa	112	07
Acinetobacter sp.	112	04

Pela Tabela 1, observamos que a biota intestinal aeróbia é predominantemente composta por *Escherichia coli* (72%) seguido pelos *Lactobacillus sp.* (67%), enterococos (66%) e *Proteus mirabilis* (25%).

Segundo Lee e cols[7] e Savage[11], *Escherichia coli* invade o intestino do camundongo por volta do décimo dia de vida, sendo o responsável pelo consumo de oxigênio residual, propiciando o estabelecimento da microbiota anaeróbia. A predominância deste microrganismo no grupo A pode estar relacionada com o início da alimentação por meio de ração peletizada, favorecendo sua invasão e proliferação (Lee[8]). A diminuição gradativa de *Escherichia coli*, nos diversos grupos etários, sugere a invasão de outros microrganismos e a respectiva competitividade por seus nichos específicos.

A colonização do gênero *Lactobacillus* ocorre aos dois dias de vida, pelo fato da alimentação inicial do camundongo ser exclusivamente de leite materno (Lee e cols[7] e Savage[11]), estabelecendo-se no estômago, intestino delgado e grosso (Schaedler e cols[12]). A freqüência de positividade deste microrganismo, em nossos estudos, mostrou-se elevada em todas as faixas etárias (Tabela 2) demonstrando grande adaptação ao ecossistema intestinal como já demonstrado por Itoh & Oowada[6].

TABELA 2

Valores da freqüência de ocorrência de bactérias detectadas em fezes de grupos compostos por 28 camundongos em diferentes faixas etárias.

Microrganismo	Grupos (dia/idade)			
	A Até 30	B 31-60	C 61-90	D 91-180
Escherichia coli	89%	71%	68%	61%
Lactobacillus sp.	68%	64%	68%	68%
enterococos	64%	68%	64%	68%
Proteus mirabilis	14%	36%	25%	25%
Enterobacter cloacae	–	11%	14%	14%
Pseudomonas aeruginosa	4%	–	7%	18%
Acinetobacter sp.	4%	4%	4%	4%

Já para os enterococos, existem controvérsias quanto sua fase de invasão (Lee e cols[7] e Savage[11]). Em nossos estudos este microrganismo encontra-se presente em todos os grupos analisados com alta freqüência de positividade (Tabela 2). Como no grupo anterior a alta freqüência demonstra sua habilidade em adaptar-se ao ecossistema intestinal.

Quanto ao *Proteus mirabilis*, observamos sua estabilização após 60 dias com positividade de 25% (Tabela 2). Nossos resultados apresentam-se intermediários aos de Hagen e cols[5] 9% e Srivastava e cols[14] 33%. Segundo Desbordes & Suire[1], camundongos previamente sensibilizados com esse microrganismo, no teste de toxicidade, apresentam taxa de crescimento inferior à do grupo controle.

Enterobacter cloacae foi isolado a partir de 30 dias com positividade de

11%. Esse resultado diverge dos estudos de Lee e cols[7] e Savage[11] que registraram sua implantação, no intestino de camundongo, aos dez dias de vida. Assim como nos demais grupos sua estabilização ocorreu aos 60 dias com positividade de 14% (Tabela 2), apresentando-se superior a encontrada por Srivastava e cols[14] 2%.

O gênero *Pseudomonas aeruginosa*, nas diferentes faixas etárias, apresentou variações nas freqüências de positividade (Tabela 2), provavelmente pelo baixo poder de invasão apresentado pelo microrganismo (Millican[10]). Embora esse microrganismo apresente baixa virulência, e as freqüências obtidas encontrem-se dentro dos índices estabelecidos por Flynn[4] para colônias convencionais, devemos levar em consideração sua presença indesejável em estudos que envolvam stress, como os de infecção experimental.

A freqüência de *Acinetobacter sp.*, manteve-se constante em todas as faixas etárias analisadas 4% (Tabela 2). Esse microrganismo não foi detectado em nenhum estudo realizado sobre a biota intestinal de camundongos não sendo possível prever seu efeito quando em associação com a vacina Pertussis.

CONCLUSÕES

A microbiota intestinal da linhagem de camundongos N:NIH(S) apresenta pequena diversificação de espécies, aeróbias, dentro do ponto de vista sanitário é bastante satisfatório.

A estabilização da comunidade clímax, do ecossistema intestinal, foi atingida aos 60 dias de vida do animal. Este pode ser um fator desfavorável, no que diz respeito à faixa etária em que os animais são utilizados nos testes (31-60 dias) uma vez que, a uniformidade e o comportamento imunológico são de fundamental importância para a interpretação dos testes de toxicidade da vacina Pertussis.

Além disso, na faixa etária de 31-60 dias, foram isolados microrganismos como *Proteus mirabilis* e *Pseudomonas aeruginosa* que podem interferir de maneira adversa na prova de toxicidade quando em associação com a vacina Pertussis, caracterizando uma interpretação inadequada dos resultados obtidos, como já demonstrado por Manclark[9] e Desbordes & Suire[1].

A literatura não cita a ação de *Acinetobacter sp.*, no camundongo em teste, devendo ser estudado seus efeitos quando administrada a vacina Pertussis.

ABSTRACT: The object of the present estudy was to characterize the organisms, aerobic, potentially pathogenic to N:NIH(S) mice, used as biological models on the toxic and Pertussis vaccine tests. The samples of faeces were treated and propagated by means of enrichment and selectiva procedures, and the isolated microrganisms were submitted to biochemical identification.
Isolated were: *Escherichia coli* (72%), *Lactobacillus sp.* (67%), enterococci (66%), *Proteus mirabilis* (25%), *Enterobacter cloacae* (10%), *Pseudomonas aeruginosa* (7%) and *Acinetobacter sp.* (4%).
KEYWORDS: *Enterobacteriaceae, intestinal bacteria, intestinal microbiota of mice.*

ALEXANDRE, S.R.; LOPES, S.F.; RIGHETTI NETO, C.; MALUCELLI, M.I.C. Isolamento e identificação de bactérias intestinais de camundongos N:NIH (S), destinados a testes biológicos de vacinas bacterianas. **Mem. Inst. Butantan, 51**(2): 57-62, 1989.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. DESBORDES, J & SUIRE, A. A propos du contrôle vaccin anticoquelucheux. *Progr. Immunobiol. Standard, 4*: 592-596, 1970.
2. DIFCO LABORATORIES, DETROIT, Difco manual of dehydrated culture media and reagents for microbiology. 20. ed. Detroit, Difco Laboratories, 1984.
3. EDWARDS, P. R. & EWING, W. H. Isolaticn and preliminary identification of Enterobacteriaceae. In :—*Identification of Enterobacteriaceae*. 4. ed. Mineápolis, Burgers Publishing, 1976. p. 10-23.
4. FLYNN, R. J. Introduction: *Pseudomonas aeruginosa* infection and its effects on biological and medical research. *Lab. anim. Care, 13*: 1-5, 1963.
5. HAGEN, C. A.; BARBERA, P. W.; BLAIR, W. H.; SHEFNER, A. W.; POILEY, S. M. Similarity of intestinal microflora of BDF_1 conventional mice from differente sources and of different ages. *Lab. anim. Care, 18*: 550-556, 1968.
6. ITOH, K. & OOWADA, T. Characteristic faecal flora of NC mice. *Lab. Anim., 19*: 7-15, 1985.
7. LEE, A.; GORDON, J.; LEE, C. J.; DUBOS, R. The mouse intestinal flora witch emphasis on the strict anaerobes. *J. exp. Med., 133*: 339-352, 1971.
8. LEE, A. Neglected Niches: The microbial ecology of gastrointestinal tract. In: Marshall K. C. *Advances in microbial ecology*. New York, Plenum Press, 1985. v. 8. p. 115-162.
9. MANCLARK, C. R. Selective breeding to establish a standard mouse for Pertussis vaccine biossay II. Bioresponce of mice susceptible and resistant to sensitization by Pertussis vaccine HSF. *J. Biol. Stand. 3*: 353-367, 1975.
10. MILLICAN, R. C. *Pseudomonas aeruginosa* infection and its effects in non-radiation stress. *Lab. anim. Care., 13*: 11-19, 1963.
11. SAVAGE, D. C. Defining the gastrointestinal microflora of laboratory mice. *Ilar News, 12*(3): 22, 1969.
12. SCHAEDLER, R. W. & DUBOS, R. J. The fecal of various strains of mice. Its bearing in their susceptibility to endotoxin. *J. exp. Med., 115*: 1149-1159, 1962.
13. SCHAEDLER, R. W.; DUBOS, R. J.; COSTELLO, R. The development of the bacterial flora in the gastointestnal tract of mice. *J. exp. Med., 122*: 59-66, 1965.
14. SRIVASTAVA, L.; MATHEW, T.; SURI, J. C.; EDWARD, E. J.; SOOD, P. L. Carriage of *Salmonella* species by laboratory animals. *Ind. j. Pathol. Microbiol., 23*: 69-72, 1980.
15. TREXLER, P. C. Gnotobiotic animals. IN: THE UFAW. *Handbook on the care and management of laboratory animals*. 5 ed. Edinburgh, Churchil Livingstone, 1976. p. 135-146.

Mem. Inst. Butantan
51(2): 63-67, 1989.

ANOMALIAS MORFOLÓGICAS EXTERNAS EM ESCORPIÕES BRASILEIROS

Fabio A. MATTHIESEN *

RESUMO: Embora muitas anomalias morfológicas externas sejam conhecidas em escorpiões, poucas se referem a representantes de *Tityus* ou de *Rhopalurus* da fauna brasileira, assunto tratado neste artigo.
Malformações podem ser congênitas, devidas a complicações por ocasião da muda, ou conseqüência de acidentes. Podem ser considerados diversos padrões de anomalias: redução do número de artículos das pernas, dedos curtos nos pedipalpos, alteração no número de olhos, alterações nos pentes (presença de dentes com base soldada, ausência de alguns dentes e de fulcros, dentes pequenos, etc.), anomalias na vesícula e ferrão.
Exemplares de *Tityus bahiensis* submetidos a traumatismos experimentais mostraram-se consideravelmente resistentes. Uma fêmea adulta e um jovem sobreviveram respectivamente, 44 e 45 dias com metassoma amputado na altura do segmento II.

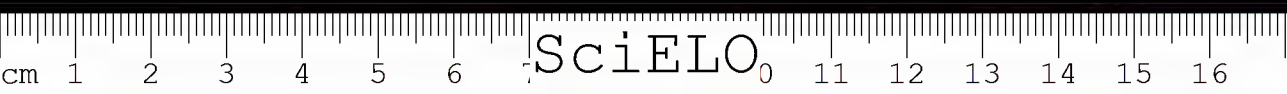
UNITERMOS: Anomalias morfológicas, escorpiões, *Tityus, Rhopalurus*

INTRODUÇÃO

Trabalhando com escorpiões há mais de 25 anos, tive oportunidade de encontrar numerosos exemplares portadores de anomalias morfológicas externas, afetando diferentes partes do corpo. A maioria foi encontrada em *Tityus serrulatus* Lutz & Mello, o que se explica pelo grande número de indivíduos examinados (mais de 2.000). Na literatura existem desde longa data, referências sobre esse assunto, numerosas demais para que figurem no presente artigo. Apesar disso, são poucas as relativas a espécies brasileiras: Matthiesen[9,10,11,12], Lourenço[8], Armas[5]. Algumas das anomalias aqui apresentadas já são conhecidas em espécies exóticas, porém, é a primeira vez que são mencionadas para nossas espécies. Por esse motivo julguei de interesse registrá-las.

---

* Departamento de Zoologia, Instituto de Biociências – UNESP – Campus de Rio Claro – CP 178 – 13500 – Rio Claro, SP, Brasil.
Recebido para publicação em 12/2/1988 e aceito em 17/2/1989.

MATTHIESEN, F. A. Anomalias morfológicas externas em escorpiões brasileiros. **Mem. Inst. Butantan, 51**(2): 63-67, 1989

MATERIAL E MÉTODOS

Os representantes de *Tityus bahiensis* (Perty) examinados, procediam de Rio Claro (SP) e adjacências; os de *Tityus serrulatus* Lutz & Mello, em sua maioria, de Nova Era (MG), e faziam parte de lotes diversos recebidos pelo Instituto Butantan; os *Tityus stigmurus* (Thorell) e *Rhopalurus rochai* Borelli provieram particularmente de Pesqueira e Serra Talhada (PE), e foram coletados em 1963.

Os exemplares portadores de anomalias não foram especificamente procurados mas descobertos, ao acaso. Os pentes foram examinados, desenhados e medidos, com auxílio de microscópio estereoscópico Zeiss.

RESULTADOS DE DISCUSSÃO

A maioria das anomalias morfológicas conhecidas em escorpiões pode se encaixar em diferentes tipos ou padrões (Matthiesen[9]). Um deles consiste na redução do número de artículos das pernas, bem discutido por Vachon[16]. Um perna em tais condições tem seu último artículo provido de unhas, o que é atribuído a uma regeneração incompleta da parte perdida do apêndice (Rosin & Shulov[14]; Rosin[13]). Esse tipo de anomalia foi encontrado em *T. serrulatus* e *T. stigmurus*. No primeiro, o artículo com unhas era muito reduzido e se ligava diretamente à tíbia.

Outro tipo, mais comum, é a presença de dedos curtos nos pedipalpos. Nos casos observados em *T. serrulatus*, a mão portadora dessa anomalia tinha um dedo de comprimento proporcional ao tamanho do animal, e o outro curto, com pouco mais de metade do comprimento normal. Embora a extremidade do dedo curto não mostrasse sinal de ruptura, o fenômeno, se não congênito, possivelmente se originou de quebra acidental do dedo, quando o animal se encontrava em estádio anterior de desenvolvimento.

Um terceiro tipo é constituído por alterações no número de olhos (Vachon[15]; Abalos[1]; Matthiesen[9]; Armas[2,3,4,5]; González-Sponga[7]; Lourenço[8]). Encontrei-o numa fêmea de *T. bahiensis*, que tinha quatro olhos laterais de um dos lados em vez de três e numa fêmea de *R. rochai*, que não tinha olhos medianos.

A algumas malformações dos pentes referiu-se Armas[6]. No tocante a essas estruturas, as presentes observações se restringem a *T. serrulatus*. Nesta espécie, um pente normal é constituído por três placas dorsais, oito placas intermediárias, uma série de fulcros arredondados, e cerca de 20 a 22 dentes pectíneos aproximadamente semelhantes entre si. A placa dorsal basal se estende por mais de metade do comprimento do pente, e é mais longa do que as outras duas placas dorsais juntas. Estas têm aproximadamente o mesmo comprimento sendo a distal, afilada em sua extremidade externa. As cinco primeiras placas intermédias correspondem ao comprimento da dorsal basal, as duas seguintes e metade da última, ao comprimento da segunda placa dorsal. A placa intermédia basal não é dilatada sendo a segunda, a maior de todas; as outras diminuem paulatinamente de tamanho, no sentido base do pente-extremidade.

Dentre as malformações encontradas, menciono:

1. *Dentes com base única ou bases soldadas* — A Fig. 1 mostra a parte distal de um pente cujos dentes tinham bases soldadas. Na Fig. 2 está re-

presentada a placa intermédia de um pente esquerdo, com fulcros normais e dois dentes com bases soldadas em maior extensão do que na Fig. 1. O pente desse exemplar apresentava um total de vinte dentes, mais os dois com base única.

2. *Dentes duplos em toda sua extensão* — Na Fig. 3 vê-se a porção proximal de um pente direito com o quarto e o quinto dentes duplos em toda sua extensão. O pente tinha 20 dentes, incluindo os dois duplos. No quinto nota-se uma tênue "linha de sutura" entre os dois dentes unidos. Na Fig. 4, o sexto dente é o duplo, com volume aproximado do dobro dos demais O total de dentes desse pente era 18, mais o dente duplo. Rosin & Shulov[11] encontraram casos semelhantes em *Nebo hierochonticus* (Simon) (Diplocentridae).

3. *Projeção dentiforme da última placa dorsal* — A Fig. 5 representa a parte distal de um pente direito cuja placa dorsal tinha duas dilatações dentiformes, sem fulcro. O número total de dentes do pente era 19, além das mencionadas projeções.

4. *Placa dorsal reduzida na parte distal do pente* — Na Fig. 6 está esquematizado um pente com essa característica. Os dentes distais formavam um ângulo de quase 180 graus com as placas dorsais. Existiam também dentes com base única e fulcros indistintos.

5. *Redução do número das placas dorsais e intermédias* — (Fig. 7) — Na figura, as placas intermédias são reduzidas em número e a primeira placa dorsal é a única presente e vai se afilando paulatinamente em direção à parte distal.

6. *Dentes menores que os normais* — (Figs. 8 e 9) — Rosin & Shulov[14] encontraram caso semelhante em *N. hierochonticus*. Na Fig. 9 o número de fulcros é também reduzido.

7. *Ausência de um ou mais dentes* — A Fig. 10 representa a parte proximal de um pente direito portador de 19 dentes; a segunda placa intermédia apresenta uma projeção que avança sobre o local da falha, onde falta igualmente fulcro.

De anomalias da vesícula e do ferrão já tratei em outro artigo (Matthiesen[12]). Incluo nesta categoria o caso da Fig. 11, que mostra não apenas essas partes deformadas, mas também os segmentos posteriores do metassoma, sem dúvida, em conseqüência de complicações da muda.

Outros defeitos, possivelmente de origem traumática, podem ser acrescentados aos já mencionados. Uma fêmea adulta de *R. rochai* apresentava o tegumento com sinais de fratura nas partes posteriores do segmento metassomático IV, e na anterior do V. Do lado direito, aproximadamente metade de ambos os segmentos estava afetada. Apesar do defeito, o local estava bem cicatrizado. Traumas mais drásticos experimentais, foram também observados. Um jovem de *T. bahiensis* de cerca de 2,5cm de comprimento, viveu 45 dias com metassoma amputado na porção mediana do segmento II e uma fêmea adulta da mesma espécie, viveu 44 dias em condições semelhantes, o que mostra haver grande tolerância desses escorpiões a tal tipo de trauma. Durante a maior parte do tempo os animais mostraram-se ativos e pareciam capazes de superar totalmente a condição em que se encontravam. O jovem aceitou alimento e a fêmea deu à luz, respectivamente 29 e 26 dias antes da morte.

MATTHIESEN, F. A. Anomalias morfológicas externas em escorpiões brasileiros. Mem. Inst. Butantan, 51(2): 63-67, 1989.

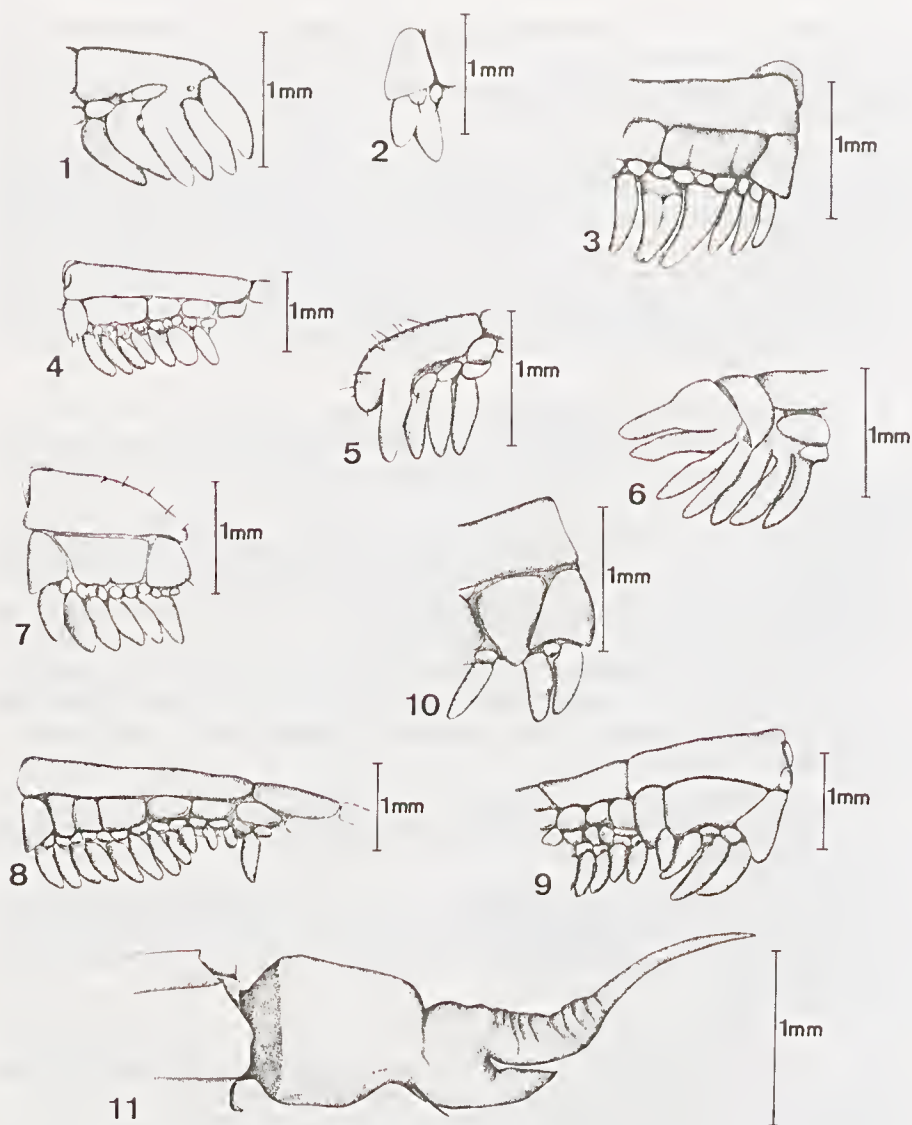



Fig. 1-10 — Tityus serrulatus: malformações dos pentes.
Fig. 1 — Pente esquerdo com dentes medianos soldados na base e falta de alguns fulcros.
Fig. 2 — Pente esquerdo com fulcros normais e dois dentes com bases soldadas.
Fig. 3 — Porção proximal de um pente direito, com 4º e 5º dentes duplos em toda sua extensão.
Fig. 4 — Pente esquerdo com 6º dente duplo.
Fig. 5 — Parte distal de um pente com dilatação dentiforme na última placa dorsal e sem fulcro.
Fig. 6 — Parte distal de um pente com última placa dorsal reduzida.
Fig. 7 — Pente com uma única placa dorsal.
Figs. 8 e 9 — Pentes com dentes anômalos, menores que os normais.
Fig. 10 — Parte proximal de um pente com ausência de alguns dentes e fulcros.
Fig. 11 — Tityus bahiensis: parte posterior do metassoma, mostrando a porção terminal do segmento V, vesícula e ferrão deformados.

MATTHIESEN, F. A. Anomalias morfológicas externas em escorpiões brasileiros. **Mem. Inst. Butantan, 51**(2): 63-67, 1989.

ABSTRACT: Many external morphological abnormalities are well known in scorpions but not many in Brazilian species. In this article some cases are recorded in Tityus and Rhopalurus from Brazil.
Some kinds of abnormalities may be considered: reduction of the number of legs' articles, short fingers in the pedipalps, alterations in the pectines as presence of double teeth, lack of teeth, short teeth etc.
Individuals of Tityus bahiensis submited to experimental injuries showed remarkable resistance. An adult female and a young survived 44 and 45 days respectively after amputation of their metasoma.
KEYWORDS: morphological abnormalities, scorpions, Tityus, Rhopalurus.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABALOS, J. W. El género *Zabius* Thorel, 1894 (Buthidae, Scorpiones). *An. Inst. med. reg. Univ. nac. Tucumán, 3*(3):349-356, 1953.
2. ARMAS, L. F. de. Escorpiones del Archipiélago Cubano. I Nuevo género y nuevas especies de Buthidae (Arachnida: Scorpionida). *Poeyana*, (114):1-28, 1973.
3. ARMAS, L. F. de. Escorpiones del Archipiélago Cubano. III. Género *Tityus* C. L. Koch, 1836 (Scorpionida: Buthidae). *Poeyana*, (135):15, 1974.
4. ARMAS, L. F. de. Escorpiones del Archipiélago Cubano. VI. Familia Diplocentridae (Arachnida: Scorpiones). *Poeyana*, (147):1-35, 1976.
5. ARMAS, L. F. de. Anomalias en algunos Buthidae (Scorpionida) de Cuba y Brasil. *Poeyana*, (176): 1-7, 1977.
6. ARMAS, L. F. de. Morfometria de *Tityus quinqueyanus* Armas (Scorpiones: Buthidade) con notas sobre su historia natural. *Poeyana*, (338):1-17, 1987.
7. GONZÁLEZ-SPONGA, M. A. Rectification del caracter "ojos laterales" en varios géneros de la familia Chactidade (Scorpionidae) en Venezuela. *Acta biol. Venez.*, *9*(3):303-315, 1977.
8. LORENÇO, W. R. Alguns casos de teratologia observados em escorpiões do gênero *Tityus* (Scorpiones, Buthidae). *Rev. bras., Biol., 44*(1):9-13, 1984.
9. MATTHIESEN, F. A. *Aspectos morfológicos e biológicos dos escorpiões.* São Paulo, 1966 (Tese — USP).
10. MATTHIESEN, F. A. Ocorrência de ferrão duplo numa fêmea de *Tityus serrulatus* Lutz & Mello, 1922. *Ciên. Cult., 30*(7): 602, 1978.
11. MATTHIESEN, F. A. An unusual developmental anomaly in scorpions. *J. Arachnol.*, *8*:281, 1980.
12. MATTHIESEN, F. A. Anomalias da vesícula e do ferrão em *Tityus serrulatus* Lutz & Mello, 1922 (Scorpiones, Buthidae). *Ciên. Cult., 33*(1):92-94, 1981.
13. ROSIN, R. On regeneration in scorpions. *Israel J. Zool., 13*:177-183, 1964.
14. ROSIN, R. & SHULOV, A. Studies on the scorpion *Neho hierochonticus. Proc. Zool. Soc. London, 140*(4):547-575, 1963.
15. VACHON, M. Compléments a la description du petit scorpion mauritanien *Lissothus occidentalis* Vachon, 1950 (Famille des Buthidae, E. Simon). *Arch. Inst. Pasteur,* Algérie, *30*(2):172-177, 1952.
16. VACHON, M. La régénération appendiculaire chez les scorpions (Arachnides). *C. R. Acad. Sci., Paris, 244*:2556-2559, 1957.

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

1. Somente serão aceitos trabalhos inéditos e que se destinem exclusivamente à revista. É proibida a reprodução com fins lucrativos. Os artigos de revisão serão publicados a convite da Comissão Editorial.
2. Os trabalhos deverão ser redigidos em português, inglês ou francês, datilografados preferencialmente em máquina elétrica, em espaço duplo em 3 (três) vias, em papel formato ofício e numerados no ângulo superior direito.
3. No preparo do original será observada, sempre que possível, a seguinte estrutura: **Página de rosto:** título do artigo, nome(s) do(s) autor(es) e filiação científica. **Texto:** introdução, material e métodos, resultados, discussão, conclusões, agradecimentos e referência bibliográfica. **Material de referência:** resumos (em português e inglês); unitermos (palavras ou expressões que identificam o conteúdo do artigo; devem ser incluídas até um limite máximo de três, em português e inglês).
4. As referências bibliográficas deverão ser ordenadas alfabeticamente e numeradas.
   Exemplos:
   Para livros: autor, título, edição, local de publicação, editor, ano, páginas.
   7. BIER, O. Microbiologia e imunologia. 24.ed. São Paulo, Melhoramentos, 1985. 1234p.
   Para artigos: autor, título do artigo, título do periódico, volume, página inicial e final, ano.
   8. MACHADO, J.C. & SILVEIRA F.º, J.F. Obtenção experimental da pancreatite hemorrágica aguda no cão por veneno escorpiônico. **Mem. Inst. Butantan, 40/41**: 1-9, 1976/77.
   As citações no texto devem ser por números-índices correspondentes às respectivas referências bibliográficas.
   Exemplos:
   ... método derivado de simplificação de armadilha de Disney[1]
   ... segundo vários autores[2,3,4]
5. As ilustrações (fotos, tabelas, gráficos etc.) deverão ser originais e acompanhadas de legendas explicativas. As legendas serão numeradas e reunidas em folha à parte. Os desenhos deverão ser a nanquim e as fotografias bem nítidas, trazendo no verso o nome do autor e a indicação numérica da ordem a ser obedecida no texto. As ilustrações deverão ser organizadas de modo a permitir sua reprodução dentro da mancha da revista (22 x 12,5cm).

6. Os artigos deverão conter no máximo 6 (seis) ilustrações (branco e preto). De cada trabalho serão impressas 50 (cinqüenta) separatas, sendo 10 para a Biblioteca do Instituto e 40 para os autores.
7. Os textos originais não serão devolvidos e os originais das ilustrações estarão à disposição dos autores.

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

1. Manuscripts submitted to the Editorial Board should be unpublished texts and should not be under consideration for publication elsewhere. Reproduction for commercial purposes is not allowed. The Editorial Board will plan the publication of revision articles.
2. The original and two copies of papers should be typewritten in Portuguese, English or French, double spaced, on typing paper (31 x 21cm). Pages should be numbered consecutively at the upper right corner.
3. The following structure should be considered in the preparation of the manuscript: **Title page:** with article title, name of author(s), professional address. **Text:** with introduction, material and methods, results, discussion, conclusions, acknowledgments, references, abstracts (in Portuguese and English), and keywords. A maximal number of 03 keywords should be included in Portuguese and English.
4. References in alphabetical order should be numbered consecutively.
   Examples:
   Books
   7. BIER, O. Microbiologia e imunologia. 24.ed. São Paulo, Melhoramentos, 1985. 1234p.
   Articles
   8. MACHADO, J.C. & SILVEIRA F.º, J.F. Obtenção experimental da pancreatite hemorrágica aguda no cão por veneno escorpiônico. **Mem. Inst. Butantan, 40/41**: 1-9, 1976/77.
   Citations in the text should be identified by the reference number.
   Examples:
   ... método derivado de simplificação de armadilha de Disney[1]
   ... segundo vários autores[2,3,4]
5. Illustrations (photographs, tables, figures etc.) should be the originals and legends should be submitted typewritten on a separate sheet. Line-drawings should be with China ink and photographs must be of top quality. On the back of each figure or photograph the name of the author(s) should be lighly written and the number indicating the sequence in the text. Illustrations should fit in a page measuring 22 x 12,5cm.
6. No more than 6 illustrations will be accepted and photographs should be black and white. Fifty reprints of each article are provided without charge, and 10 will be kept at the library.
7. Submitted manuscripts will not be returned to the author(s) but the original illustrations are available to author(s) by request.